

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 3 月 2 8 日
Date of Application:

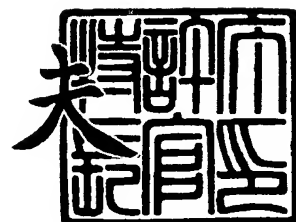
出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 0 9 0 3 6 9
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 0 9 0 3 6 9]

出 願 人 富 士 写 真 フ イ ル ム 株 式 有 限 公 司
Applicant(s):

2 0 0 4 年 2 月 1 9 日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出 証 番 号 出 証 特 2 0 0 4 - 3 0 1 1 4 7 9

【書類名】 特許願

【整理番号】 A31183A

【提出日】 平成15年 3月28日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/09

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県南足柄市中沼 2 1 0 番地 富士写真フイルム株式会社内

【氏名】 来馬 浩二

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県朝霞市泉水 3 - 1 1 - 4 6 富士写真フイルム株式会社内

【氏名】 猪股 弘子

【特許出願人】

【識別番号】 000005201

【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】

【識別番号】 110000109

【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス

【代表者】 今村 正純

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 170347

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0205141

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 生化学解析用ユニット

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に共有結合性官能基を有する生化学解析用ユニット。

【請求項 2】 共有結合性官能基を有する吸着性材料によって形成された吸着性基板と、複数の貫通した孔が形成され、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成された多孔板を備え、前記多孔板が、前記吸着性基板の少なくとも一方の面に密着され、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔内の前記吸着性基板によって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニット。

【請求項 3】 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に構造または特性が既知の特異的結合物質が共有結合を介して固定され、放射性標識物質、蛍光物質及び、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも 1 種の標識物質によって標識された生体由来物質が、前記特異的結合物質に特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識されていることを特徴とする生化学解析用ユニット。

【請求項 4】 前記構造または特性が既知の特異的結合物質が、官能基を有することを特徴とする、請求項 3 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 5】 前記官能基を有する特異的結合物質が、核酸類、タンパク質、及びペプチドからなる群から選ばれることを特徴とする、請求項 3 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 6】 前記官能基を有する核酸類が、ヌクレオチド誘導体、ペプチ

ド核酸、及びLNAよりなる群から選ばれることを特徴とする、請求項3に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項7】 前記官能基を有するヌクレオチド誘導体がオリゴヌクレオチドであることを特徴とする、請求項3に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項8】 生体由来物質が、ハイブリダイゼーション、抗原抗体反応、及びレセプタ・リガンド反応よりなる群から選ばれた反応によって、前記特異的結合物質と結合されていることを特徴とする、請求項3に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項9】 吸着性領域にスペーサーを介して共有結合性官能基を保持する、請求項1に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項10】 請求項1又は2に記載の生化学解析用ユニットを用い、該生化学解析用ユニットの吸着性領域に構造または特性が既知の特異的結合物質を共有結合を介して固定し、放射性標識物質、蛍光物質、及び化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも1種の標識物質によって標識された生体由来物質を前記特異的結合物質に特異的に結合させることで前記標識された生体由来物質を検出する、生化学解析方法。

【請求項11】 前記生体由来物質が、ハイブリダイゼーション、抗原抗体反応、及びレセプタ・リガンド反応よりなる群から選ばれた反応によって、前記特異的結合物質と結合する、請求項10に記載の生化学解析方法。

【請求項12】 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットの製造方法において、共有結合性官能基を有する材料を該基板に密着させる工程を含む、上記の生化学解析用ユニットの製造方法。

【請求項13】 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたこと

を特徴とする生化学解析用ユニットの製造方法において、基板に密着した吸着性材料に共有結合性官能基を導入する工程を含む、上記の生化学解析用ユニットの製造方法。

【請求項 14】 前記吸着性材料が多孔質材料である、請求項 12 または 13 に記載の生化学解析用ユニットの製造方法。

【請求項 15】 官能基が保持されている吸着性領域を、反応性が向上する活性化剤で処理する工程を含む、請求項 1 に記載の生化学解析用ユニットに特異的結合物質を固定化する方法。

【請求項 16】 官能基が保持されている吸着性領域を、反応性が向上する活性化剤で処理する工程の後に、官能基を有する特異的結合物質を反応させて固定化する、請求項 15 に記載の特異的結合物質を固定化する方法。

【請求項 17】 官能基を有する特異的結合物質と吸着性領域との間にスペーサーを保持させる、請求項 15 に記載の特異的結合物質を固定化する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、吸着性領域に官能基を導入した生化学解析用ユニットおよびそれを用いた生化学解析方法に関するものである。より詳細には、本発明は、互いに離間して形成された、複数の吸着性領域に共有結合を介して特異的結合物質（例えば、リガンドまたはリセプタなど）を固定化可能な生化学解析用ユニット、その製造方法、それを用いた特異的結合物質の固定化方法、及びそれを用いた生化学解析方法に関するものである。

【0002】

【従来技術】

近年、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの担体表面上の異なる位置に、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アブザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、RNA など、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質を、スポッター装置を用いて、滴下して、多数の独立したスポットを形成し、次いで、

ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、mRNAなど、抽出、単離などによって、生体から採取され、あるいは、さらに、化学的処理、化学修飾などの処理が施された生体由来の物質であって、蛍光物質、色素などの標識物質によって標識された物質をハイブリダイゼーションなどによって特異的結合物質に特異的に結合させたマイクロアレイに、励起光を照射して、蛍光物質、色素などの標識物質から発せられた蛍光などの光を光電的に検出して、生体由来の物質を解析するマイクロアレイ解析システムが開発されている。このマイクロアレイ解析システムによれば、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの担体表面上の異なる位置に、数多くの特異的結合物質のスポットを高密度に形成して、標識物質によって標識された生体由来の物質をハイブリダイズさせることによって、短時間に、生体由来の物質を解析することが可能になるという利点がある。

【0003】

また、メンブレンフィルタなどの担体表面上の異なる位置に、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、RNAなど、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質をスポッター装置を用いて、滴下して、多数の独立したスポットを形成し、次いで、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、mRNAなど、抽出、単離などによって、生体から採取され、あるいは、さらに、化学的処理、化学修飾などの処理が施された生体由来の物質であって放射性標識物質によって標識された物質を、ハイブリダイゼーションなどによって特異的結合物質に特異的に結合させたマイクロアレイを、輝尽性蛍光体を含む輝尽性蛍光体層が形成された蓄積性蛍光体シートと密着させて、輝尽性蛍光体層を露光し、しかる後に、輝尽性蛍光体層に励起光を照射し、輝尽性蛍光体層から発せられた輝尽光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、生体由来の物質を解析する放射性標識物質を用いたマイクロアレイ解析システムも開発されている。

【0004】

従来の生化学解析ユニットでは特異的結合物質を非共有結合的に固定化させる方法が一般的である。固定化する特異的結合物質がDNAなどの核酸類の場合には、UV照射などの後処理にて固定化することもある。いずれの方法でも、固定化したい特異的結合物質の向きや結合部位の制御が難しい。

【0005】

共有結合的に固定するシステムにおいては、特に核酸類のうち合成オリゴヌクレオチドのような短鎖DNAの場合は顕著であるが、一般にオリゴヌクレオチドの塩基の一部が固定化に使われてしまい、標的物質と結合可能な塩基が減少し、その結果結合能力の低下を生じる可能性が高い。さらに、例えば長鎖DNAであれば固定化量を十分に保つことは可能であるが、合成オリゴヌクレオチドのような短鎖DNAの場合非共有結合では固定化率が低くかなりのオリゴヌクレオチドが剥離してしまう。このことも感度の大きな低下を招くことになる。固定化するリガンドまたはレセプタがタンパクの場合は静電結合及び疎水性結合にて非共有結合的に結合させることが一般的である。この場合も、タンパク質のどの部分と吸着性領域が結合するかの規定がしづらだけでなく、タンパク質の変性を招く可能性が高い。

【0006】

特開2002-355036号公報(特許文献1)には、放射線および/または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニット、並びにそれを用いた生化学解析方法が記載されている。

【0007】

国際公開WO00/34457号公報(特許文献2)には、オリゴヌクレオチドを含有する緩衝液をガラスなどの担体上にスポットしてオリゴヌクレオチドを該担体に固定化する方法であって、オリゴヌクレオチドを共有結合を介して担体に固定化することを特徴とするオリゴヌクレオチドの担体への固定化方法が記載されている。

【0008】

特開平 5-168499 号公報 (特許文献 3) には、高密度の陰イオン性カルボキシル基を有し、5' アミンを含むオリゴヌクレオチドプローブの少なくとも 1 種がアミド結合を介して共有的に結合されるナイロン膜を含んでなるオリゴヌクレオチドプローブ試薬、並びにその製造方法が記載されている。

【0009】

【特許文献 1】

特開 2002-355036 号公報

【特許文献 2】

国際公開 WO00/34457 号公報

【特許文献 3】

特開平 5-168499 号公報

【0010】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は上記の従来技術の問題点を解消することを解決すべき課題とした。即ち、本発明は、特異的結合物質を強固かつ高効率な固定化をすることが可能であり、固定化する特異的結合物質の方向のコントロールすることにより特異的かつ高いシグナルを得ることができる生化学解析用ユニットを提供することを解決すべき課題とした。さらに、本発明は、上記生化学解析用ユニットを用いた生化学解析方法、上記生化学解析用ユニットの製造方法、及び上記生化学解析用ユニットを用いた特異的結合物質の固定化方法を提供することを解決すべき課題とした。

【0011】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記課題を解決するために鋭意検討した結果、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に共有結合性官能基を導入することによって、所望の効果を奏する生化学解析用ユニットを提供できることを見出した。本発明はこの知見に基

づいて完成したものである。

【0012】

即ち、本発明によれば、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に共有結合性官能基を有する生化学解析用ユニットが提供される。

【0013】

本発明の別の側面によれば、共有結合性官能基を有する吸着性材料によって形成された吸着性基板と、複数の貫通した孔が形成され、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成された多孔板を備え、前記多孔板が、前記吸着性基板の少なくとも一方の面に密着され、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔内の前記吸着性基板によって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットが提供される。

【0014】

本発明のさらに別の側面によれば、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に構造または特性が既知の特異的結合物質が共有結合を介して固定され、放射性標識物質、蛍光物質及び、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも1種の標識物質によって標識された生体由来物質が、前記特異的結合物質に特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識されていることを特徴とする生化学解析用ユニットが提供される。

【0015】

好ましくは、前記構造または特性が既知の特異的結合物質は、官能基を有する。

好ましくは、前記官能基を有する特異的結合物質は、核酸類、タンパク質、及

びペプチドからなる群から選ばれる。

好ましくは、前記官能基を有する核酸類は、ヌクレオチド誘導体、ペプチド核酸、及び LNA よりなる群から選ばれる。

【0016】

好ましくは、前記官能基を有するヌクレオチド誘導体はオリゴヌクレオチドである。

好ましくは、生体由来物質は、ハイブリダイゼーション、抗原抗体反応、及びレセプタ・リガンド反応よりなる群から選ばれた反応によって、前記特異的結合物質と結合されている。

好ましくは、吸着性領域にスペーサーを介して共有結合性官能基を保持している。

【0017】

本発明のさらに別の側面によれば、上記した生化学解析用ユニットを用い、該生化学解析用ユニットの吸着性領域に構造または特性が既知の特異的結合物質を共有結合を介して固定し、放射性標識物質、蛍光物質、及び化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも 1 種の標識物質によって標識された生体由来物質を前記特異的結合物質に特異的に結合させることで前記標識された生体由来物質を検出する、生化学解析方法が提供される。

【0018】

好ましくは、前記生体由来物質は、ハイブリダイゼーション、抗原抗体反応、及びレセプタ・リガンド反応よりなる群から選ばれた反応によって、前記特異的結合物質と結合する。

【0019】

本発明のさらに別の側面によれば、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットの製造方法において、共有結合性官能基を有する材料を該基板に密着させる工程を含む、上記の生化学解析用

ユニットの製造方法が提供される。

【0020】

本発明のさらに別の側面によれば、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットの製造方法において、基板に密着した吸着性材料に共有結合性官能基を導入する工程を含む、上記の生化学解析用ユニットの製造方法が提供される。

好ましくは、前記吸着性材料は多孔質材料である。

【0021】

本発明のさらに別の側面によれば、官能基が保持されている吸着性領域を、反応性が向上する活性化剤で処理する工程を含む、上記した本発明の生化学解析用ユニットに特異的結合物質（例えば、リガンドまたはレセプタなど）を固定化する方法が提供される。

好ましくは、官能基が保持されている吸着性領域を、反応性が向上する活性化剤で処理する工程の後に、官能基を有する特異的結合物質を反応させて固定化する。

好ましくは、官能基を有する特異的結合物質と吸着性領域との間にスペーサーを保持させる。

【0022】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態について説明する。

本発明の生化学解析用ユニットは、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に共有結合性官能基をもつことを特徴とするものである。

【0023】

生化学解析用ユニットに互いに離間して形成された、複数の吸着性領域に共有

結合可能な官能基を導入することで、特異的結合物質を共有結合を介して結合させる。それにより、従来より強固かつ高効率な固定化を達成する。さらに、吸着性領域と特異的結合物質の特定の位置とを結合させることで、特異的結合物質の向きを制御し特異的結合能力を最大限に引き出すことを特徴とする。その結果、従来の方法と比べて大幅な高感度化を達成することができる。

【0024】

固定化する特異的結合物質が、固定化しづらい合成オリゴヌクレオチドのような短鎖DNAの場合は特に本法を用いることは有効である。また、固定化時の変性が大きな問題となるタンパクの場合もまた非常に効果的であるといえる。

【0025】

吸着性領域への共有結合性官能基導入方法としては、生化学解析用ユニットに何からの処理をすることにより官能基を導入するか、予め官能基を導入された吸着性材料から生化学解析用ユニットを製造する方法のいずれも用いることができる。生化学解析用ユニットへの後処理方法としては例えば官能基を持ったポリマー(合成ポリマー及び天然ポリマーなど)をコートする方法、プラズマ重合やグラフト重合法にて官能基をもったモノマーより吸着性領域表面にポリマーを形成させる方法、吸着性材料表面の官能基と結合可能な二官能性低分子化合物による処理などが挙げられる。また予め官能基の導入された吸着性材料としては、官能基を持つモノマーより重合されたポリマーやコポリマー、ナイロンなど分子の末端にアミノ基やカルボキシル基を持つもの、多糖類などを還元することで官能基を持たせたもの、上記素材のブレンド品、市販のあらゆる官能基を持つ吸着性材料(例えばポール社のBiodyne C, Immunodyne ABC, UltraBind, LoProdyneなど)などを用いることができる。

【0026】

なお、本明細書にて、「特異的結合物質」とは「生物学的な特異的結合を形成する構成員」であり、例えば、レセプタ又はリガンドなどが挙げられる。

【0027】

本発明においては、生化学解析用ユニットの吸着性領域、もしくは吸着性領域を形成する吸着性材料を共有結合性官能基を有する高分子化合物で処理すること

により共有結合性官能基を導入することができる。共有結合性官能基を有する合成高分子の例としては、モノマーとしてアクリル酸、メタクリル酸、アクリルアミド、メタクリル酸メチル、グリシジルメタクリレート、アリルアミン、アリルアルデヒド、ビニル酢酸などを用いたホモポリマーもしくはコポリマー、ポリリジンなどが挙げられる。天然高分子の例としては、多糖類、アルギン酸、多糖類を過ヨウ素酸酸化によりアルデヒド化したもの、アルデヒド化多糖類を亜塩素酸ナトリウムでカルボキシル化したもの、コラーゲン、ゼラチン、カゼインなどのタンパク質などが挙げられる。

【0028】

本発明の生化学解析ユニットは、共有結合性官能基を有する吸着性材料から製造することができる。吸着性材料は共有結合性官能基を有する高分子化合物単体もしくはその複合体であってもよい。共有結合性官能基を有する合成もしくは天然高分子として例えば、モノマーとしてアクリル酸、メタクリル酸、アクリルアミド、メタクリル酸メチル、グリシジルメタクリレート、アリルアミン、アリルアルデヒド、ビニル酢酸などを用いたホモポリマーもしくはコポリマー、ポリリジン、アルギン酸などの多糖類、多糖類を過ヨウ素酸酸化によりアルデヒド化したもの、アルデヒド化多糖類を亜塩素酸ナトリウムでカルボキシル化したもの、コラーゲン、ゼラチン、カゼインなどのタンパク質が挙げられる。これら単体、もしくはナイロン6、ナイロン6, 6、ナイロン4, 10などのナイロン類；ニトロセルロース、酢酸セルロース、酪酸酢酸セルロースなどのセルロース誘導体；コラーゲン；アルギン酸、アルギン酸カルシウム、アルギン酸／ポリリシンポリイオンコンプレックスなどのアルギン酸類；ポリエチレン、ポリプロピレンなどのポリオレフィン類；ポリ塩化ビニル；ポリ塩化ビニリデン；ポリフッ化ビニリデン、ポリテトラフルオライドなどのポリフルオライドや、これらの共重合体との複合体を用いることもできる。

【0029】

本発明においては、生化学解析用ユニットの吸着性領域もしくは吸着性領域を形成する吸着性材料を表面にグラフト重合やプラズマ重合にて共有結合性官能基を持つ高分子化することができる。モノマーとしては例えば、アクリル酸、メタ

クリル酸、アクリルアミド、メタクリル酸メチル、グリシジルメタクリレート、ア릴アミン、アリアルデヒド、ビニル酢酸などを用いることができる。

【0030】

本発明においては、生化学解析用ユニットの吸着性領域もしくは吸着性領域を形成する吸着性材料を低分子化合物で処理することもできる。低分子化合物としては、例えば、トリアジン、ビニルスルホン、ヒドロキシサクシンイミド、マレイミド、グルタルアルデヒドなどが挙げられる。

【0031】

特異的結合物質と吸着性領域の結合は縮合反応や架橋反応として一般に知られた反応を用いることができる。例えばグルタルアルデヒドによるアミノ基同士の架橋、カルボジイミド単独もしくはカルボジイミドとNHSによるアミノ基とカルボキシル基との共有結合、アジドの光分解による挿入反応、アミノ基とトシル基の交換反応、チオール基とマレイミド基の反応、アジド基とアミノ基の反応、イソシアネート基とヒドロキシル基との反応、イソチオシアネート基とアミノ基の反応、アミノ基、イミノ基、ヒドラジノ基、カルバモイル基、ヒドラジノカルボニル基、もしくはカルボキシイミド基、メルカプト基とビニルスルホン基との反応、チオール基とハロゲン化アセチル基との反応、ヒドロキシル基とエポキシ基の反応、アミノ基とアルデヒド基とのシッフベースを介した反応、アルデヒド基とヒドラジド基による反応などにより実施できる。

【0032】

本発明では、官能基が保持されている吸着性領域を、反応性が向上する活性化剤で処理する工程によって、生化学解析用ユニットに特異的結合物質を固定化することができる。本発明で用いる反応性が向上する活性化剤とは、「共有結合性官能基」である、カルボキシル基、アミノ基、チオール基などを活性化するために用いる活性化剤を指し、COOHに対しては1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide Hydrochloride(略称:EDC、WAKOカタログより)(水溶性カルボジイミド)やNHS(N-ヒドロキシサクシンイミド)、アミノ基に対してはジビニルスルホンやグルタルアルデヒド、クロスリンカーと呼ばれるチオール基とアミノ基の両方と反応する二官能性の活性化剤がある。本明細書に記載の実施例では、Biod

ylene C(COOH導入済みメンブレンではEDC+NHS、ナイロンメンブレン(NH₂を持つメンブレン)ではジビニルスルホンを使って活性化している。

【0033】

本発明の生化学解析用ユニットの詳細については、特開2002-355036号公報に記載されており、特開2002-355036号公報に記載の内容は全て本明細書の開示の一部として本明細書中に含めるものとする。特開2002-355036号公報には、具体的には下記(1)から(29)に記載の生化学解析用ユニットが記載されているが、吸着性領域又は吸着性材料に共有結合性官能基を有している点を除き、下記(1)から(29)に記載の生化学解析用ユニットと同様の生化学解析用ユニットを本発明において使用することができる。

【0034】

(1) 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニット。

(2) 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成されるとともに、複数の孔が形成され、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成された基板を備え、前記基板の前記複数の孔内に形成された複数の吸着性領域に、構造または特性が既知の特異的結合物質が滴下され、放射性標識物質、蛍光物質および化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも1種の標識物質によって標識された生体由来の物質が、前記特異的結合物質に、特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識されていることを特徴とする生化学解析用ユニット。

(3) 前記生体由来の物質が、ハイブリダイゼーション、抗原抗体反応、リセプター・リガンドよりなる群から選ばれた反応によって、前記特異的結合物質と結合されていることを特徴とする(2)に記載の生化学解析用ユニット。

【0035】

(4) 前記複数の吸着性領域が、前記基板に形成された前記複数の孔内に、

吸着性材料が充填されて、形成されたことを特徴とする (1) ないし (3) のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(5) 前記複数の孔が、それぞれ、貫通孔によって構成されたことを特徴とする (1) ないし (4) のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(6) 前記複数の孔が、それぞれ、凹部によって構成されたことを特徴とする (1) ないし (4) のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(7) 前記基板が可撓性材料によって形成されていることを特徴とする (1) ないし (6) のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(8) 前記基板に、前記基板を保持可能な保持部が形成されたことを特徴とする (1) ないし (7) のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

【0036】

(9) 吸着性材料によって形成された吸着性基板と、複数の貫通した孔が形成され、放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成された多孔板を備え、前記多孔板が、前記吸着性基板の少なくとも一方の面に密着され、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔内の前記吸着性基板によって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニット。

(10) 前記吸着性基板の両面に、前記多孔板が密着されたことを特徴とする (9) に記載の生化学解析用ユニット。

(11) 前記多孔板に、前記多孔板を保持可能な保持部が形成されたことを特徴とする (9) または (10) に記載の生化学解析用ユニット。

(12) 前記吸着性基板の前記複数の吸着性領域に、構造または特性が既知の特異的結合物質が滴下され、放射性標識物質、蛍光物質および化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも 1 種の標識物質によって標識された生体由来の物質が、前記特異的結合物質に、特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識されていることを特徴とする (9) ないし (11) のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

【0037】

(13) 前記孔が 10 以上形成されたことを特徴とする (1) ないし (12)

のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(14) 前記孔が1000以上形成されたことを特徴とする(13)に記載の生化学解析用ユニット。

(15) 前記孔が10000以上形成されたことを特徴とする(14)に記載の生化学解析用ユニット。

【0038】

(16) 前記孔のサイズが5平方ミリメートル未満であることを特徴とする(1)ないし(15)のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(17) 前記孔のサイズが1平方ミリメートル未満であることを特徴とする(16)に記載の生化学解析用ユニット。

(18) 前記孔のサイズが0.01平方ミリメートル未満であることを特徴とする(17)に記載の生化学解析用ユニット。

【0039】

(19) 前記孔が、10個/平方センチメートル以上の密度で、形成されたことを特徴とする(1)ないし(18)のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(20) 前記孔が、1000個/平方センチメートル以上の密度で、形成されたことを特徴とする(19)に記載の生化学解析用ユニット。

(21) 前記孔が、10000個/平方センチメートル以上の密度で、形成されたことを特徴とする(20)に記載の生化学解析用ユニット。

【0040】

(22) 前記放射線および/または光を減衰させる性質を有する材料が、隣合う吸着性領域の間の距離に等しい距離だけ、放射線および/または光が前記材料中を透過したときに、放射線および/または光のエネルギーを、1/5以下に減衰させる性質を有することを特徴とする(1)ないし(21)のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

(23) 前記放射線および/または光を減衰させる性質を有する材料が、隣合う吸着性領域の間の距離に等しい距離だけ、放射線および/または光が前記材料中を透過したときに、放射線および/または光のエネルギーを、1/10以下

に減衰させる性質を有することを特徴とする（22）に記載の生化学解析用ユニット。

（24） 前記放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料が、隣合う吸着性領域の間の距離に等しい距離だけ、放射線および／または光が前記材料中を透過したときに、放射線および／または光のエネルギーを、1/100以下に減衰させる性質を有することを特徴とする（23）に記載の生化学解析用ユニット。

【0041】

（25） 前記基板が、金属材料、セラミック材料およびプラスチック材料よりなる群から選ばれる材料によって形成されたことを特徴とする（22）ないし（24）のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

（26） 前記多孔板が、金属材料、セラミック材料およびプラスチック材料よりなる群から選ばれる材料によって形成されたことを特徴とする（22）ないし（24）のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

（27） 前記吸着性材料が、多孔質材料よりなることを特徴とする（4）ないし（26）のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

（28） 前記多孔質材料が、炭素材料またはメンブレンフィルタを形成可能な材料よりなることを特徴とする（27）に記載の生化学解析用ユニット。

（29） 前記吸着性材料が、繊維材料よりなることを特徴とする（4）ないし（26）のいずれかに記載の生化学解析用ユニット。

【0042】

さらに、本発明は、本明細書中前記の本発明の生化学解析用ユニットを用い、該生化学解析用ユニットの吸着性領域に構造または特性が既知の特異的結合物質を共有結合を介して固定し、放射性標識物質、蛍光物質、及び化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質よりなる群から選ばれる少なくとも1種の標識物質によって標識された生体由来物質を前記特異的結合物質に特異的に結合させることで前記標識された生体由来物質を検出する、生化学解析方法に関する。

【0043】

本発明の生化学解析方法の詳細については、特開 2002-355036 号公報に記載されており、特開 2002-355036 号公報に記載の内容は全て本明細書の開示の一部として本明細書中に含めるものとする。特開 2002-355036 号公報には、具体的には下記 (30) から (62) に記載の生化学解析方法が記載されているが、これらの方法を本発明においても同様に使用することができる。

【0044】

(30) 放射線を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板の前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成されて、形成された複数の吸着性領域に、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質を滴下し、放射性標識物質によって標識された生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットを、輝尽性蛍光体層が形成された蓄積性蛍光体シートに、前記輝尽性蛍光体層が前記複数の吸着性領域と対向するように、重ね合わせて、前記複数の吸着性領域に含まれた前記放射性標識物質によって、前記輝尽性蛍光体層を露光し、前記放射性標識物質によって露光された前記輝尽性蛍光体層に励起光を照射して、前記輝尽性蛍光体層に含まれた輝尽性蛍光体を励起し、前記輝尽性蛍光体層に含まれた輝尽性蛍光体から放出された輝尽光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0045】

(31) 前記複数の吸着性領域が、前記生化学解析用ユニットの前記基板に形成された前記複数の孔内に、吸着性材料を充填して、形成されていることを特徴とする (30) に記載の生化学解析方法。

(32) 前記生化学解析用ユニットの前記基板に形成された前記複数の孔と略同一のパターンによって、前記蓄積性蛍光体シートに、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域が、互いに離間して形成され、前記複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域の各々が、前記生化学解析用ユニットの前記基板に形成された前記複数の

吸着性領域と対向するように、前記生化学解析用ユニットと前記蓄積性蛍光体シートとを重ね合わせて、前記複数の吸着性領域に含まれた前記放射性標識物質によって、前記蓄積性蛍光体シートの前記複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域を露光することを特徴とする（30）または（31）に記載の生化学解析方法。

【0046】

（33） 前記生化学解析用ユニットの前記基板が、放射線および光を減衰させる性質を有する材料によって形成されており、前記放射性標識物質に加えて、蛍光物質によって標識された前記生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、さらに、前記生化学解析用ユニットに励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする（30）ないし（32）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0047】

（34） 前記生化学解析用ユニットの前記基板が、放射線および光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、前記放射性標識物質に加えて、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって、標識された前記生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、さらに、前記生化学解析用ユニットに、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする（30）ないし（32）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0048】

（35） 前記生化学解析用ユニットの前記基板が、放射線および光を減衰させる性質を有する材料によって形成されており、前記放射性標識物質に加えて、蛍光物質および化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識された前記生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に

結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、さらに、前記生化学解析用ユニットに、励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成するとともに、前記生化学解析用ユニットに、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする（30）ないし（32）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0049】

（36） 吸着性材料によって形成された吸着性基板と、放射線を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の貫通した孔が形成された多孔板を備え、前記多孔板が、前記吸着性基板の少なくとも一方の面に密着され、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔内の前記吸着性基板によって、複数の吸着性領域が形成され、前記複数の吸着性領域に、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質が滴下され、前記特異的結合物質に、放射性標識物質によって標識された生体由来の物質が特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識された生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットと、輝尽性蛍光体層が形成された蓄積性蛍光体シートとを、前記輝尽性蛍光体層が前記複数の吸着性領域と対向するように、前記多孔板を介して、重ね合わせ、前記複数の吸着性領域に含まれた前記放射性標識物質によって、前記輝尽性蛍光体層を露光し、前記放射性標識物質によって露光された前記輝尽性蛍光体層に、励起光を照射して、前記輝尽性蛍光体層に含まれた輝尽性蛍光体を励起し、前記輝尽性蛍光体層に含まれた輝尽性蛍光体から放出された輝尽光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0050】

（37） 前記吸着性基板の両面に、前記多孔板が密着されて、前記生化学解析用ユニットが形成され、前記生化学解析用ユニットと、蓄積性蛍光体シートとを、前記輝尽性蛍光体層が前記複数の吸着性領域と対向するように、前記多孔板の

一方を介して、重ね合わせ、前記複数の吸着性領域に含まれた前記放射性標識物質によって、前記輝尽性蛍光体層を露光することを特徴とする（36）に記載の生化学解析方法。

【0051】

（38） 前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔と略同一のパターンによって、前記蓄積性蛍光体シートに、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域が、互いに離間して形成され、前記複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域が、それぞれ、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔の一つを介して、前記複数の吸着性領域の一つと対向するように、前記生化学解析用ユニットと前記蓄積性蛍光体シートとを重ね合わせて、前記複数の吸着性領域に含まれた前記放射性標識物質によって、前記複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域を露光することを特徴とする（36）または（37）に記載の生化学解析方法。

【0052】

（39） 前記多孔板が、放射線および光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、放射性標識物質に加えて、蛍光物質によって標識された生体由来の物質を、特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、さらに、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、生化学解析用ユニットに励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づき、生化学解析を実行することを特徴とする（36）ないし（38）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0053】

（40） 前記多孔板が、放射線および光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、前記放射性標識物質に加えて、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって、標識された生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットに、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、化学発光基質を接触させ、前記

標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする（36）ないし（38）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0054】

（41） 前記多孔板が、放射線および光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、前記放射性標識物質に加えて、蛍光物質および化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識された生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットに、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行するとともに、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする（36）ないし（38）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0055】

（42） 光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板の前記複数の孔内に形成された複数の吸着性領域に、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質を滴下し、蛍光物質によって標識された生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットに、励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0056】

（43） 光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成

された基板の前記複数の孔内に形成された複数の吸着性領域に、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質を滴下し、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識された生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットに、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0057】

(44) 光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板の前記複数の孔内に形成された複数の吸着性領域に、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質を滴下し、蛍光物質および化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識された生体由来の物質を、前記特異的結合物質に特異的に結合させて、前記複数の吸着性領域を選択的に標識して、生化学解析用ユニットを作製し、前記生化学解析用ユニットに、励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成するとともに、前記生化学解析用ユニットに、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0058】

(45) 前記複数の吸着性領域が、前記生化学解析用ユニットの前記基板に形成された前記複数の孔内に、吸着性材料を充填して、形成されていることを特徴とする(42)ないし(44)のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0059】

(46) 吸着性材料によって形成された吸着性基板であって、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質が滴下されて、複数の吸着性領域が形成され、前記複数の吸着性領域に含まれた特異的結

合物質に、蛍光物質によって標識された生体由来の物質が特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識された吸着性基板と、光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に対応する位置に、複数の貫通した孔が形成された多孔板とを密着させ、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に励起光を照射して、前記蛍光物質を励起して、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出し、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0060】

(47) 前記吸着性基板の両面に、前記多孔板が密着されて、前記生化学解析用ユニットが形成され、前記多孔板の一方に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に、励起光を照射し、前記蛍光物質を励起して、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出することを特徴とする(46)に記載の生化学解析方法。

【0061】

(48) 吸着性材料によって形成された吸着性基板であって、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質が滴下されて、複数の吸着性領域が形成され、前記複数の吸着性領域に含まれた特異的結合物質に、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識された生体由来の物質が特異的に結合されて、前記吸着性領域が選択的に標識された吸着性基板と、光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、前記吸着性基板の前記複数の吸着性領域に対応する位置に、複数の貫通した孔が形成された多孔板とを密着させ、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0062】

(49) 前記吸着性基板の両面に、前記多孔板が密着されて、前記生化学解析用ユニットが形成され、前記多孔板の一方に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出することを特徴とする(48)に記載の生化学解析方法。

【0063】

(50) 吸着性材料によって形成された吸着性基板であって、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、構造または特性が既知の特異的結合物質が滴下されて、複数の吸着性領域が形成され、前記複数の吸着性領域に含まれた特異的結合物質に、蛍光物質および化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識された生体由来の物質が特異的に結合されて、前記複数の吸着性領域が選択的に標識された吸着性基板と、光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に対応する位置に、複数の貫通した孔が形成された多孔板とを密着させ、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に励起光を照射して、前記蛍光物質を励起して、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出し、生化学解析用データを生成するとともに、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする生化学解析方法。

【0064】

(51) 前記吸着性基板の両面に、前記多孔板が密着されて、前記生化学解析用ユニットが形成され、前記多孔板の一方に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に、励起光を照射して、前記蛍光物質を励起し、前記蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成するとともに、前記多孔板の一方に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領

域に、化学発光基質を接触させ、前記標識物質から放出される化学発光を光電的に検出して、生化学解析用データを生成し、前記生化学解析用データに基づいて、生化学解析を実行することを特徴とする（50）に記載の生化学解析方法。

【0065】

（52） 前記特異的結合物質が、前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔を介して、前記吸着性基板に形成された前記複数の吸着性領域に滴下することを特徴とする（36）ないし（41）および（45）ないし（50）のいずれかに記載の生化学解析方法。

（53） 前記孔が10以上形成されたことを特徴とする（30）ないし（52）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0066】

（54） 前記孔のサイズが5平方ミリメートル未満であることを特徴とする（30）ないし（53）のいずれかに記載の生化学解析方法。

（55） 前記孔が、10個／平方センチメートル以上の密度で、形成されたことを特徴とする（30）ないし（54）のいずれかに記載の生化学解析方法。

（56） 前記放射線を減衰させる性質を有する材料が、隣り合う吸着性領域の間の距離に等しい距離だけ、放射線が前記材料中を透過したときに、放射線のエネルギーを1／5以下に減衰させる性質を有することを特徴とする（30）ないし（41）および（52）ないし（55）のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0067】

（57） 前記光を減衰させる性質を有する材料が、隣り合う吸着性領域の間の距離に等しい距離だけ、光が前記材料中を透過したときに、光のエネルギーを1／5以下に減衰させる性質を有することを特徴とする（33）ないし（35）および（39）ないし（55）のいずれかに記載の生化学解析方法。

（58） 前記基板が、金属材料、セラミック材料およびプラスチック材料よりなる群から選ばれる材料によって形成されたことを特徴とする（56）または（57）に記載の生化学解析方法。

（59） 前記多孔板が、金属材料、セラミック材料およびプラスチック材料よりなる群から選ばれる材料によって形成されたことを特徴とする（56）または

(57) に記載の生化学解析方法。

【0068】

(60) 前記吸着性材料が、多孔質材料よりなることを特徴とする(31)ないし(41)および(45)ないし(59)のいずれかに記載の生化学解析方法。

(61) 前記多孔質材料が、炭素材料またはメンブレンフィルタを形成可能な多孔質材料よりなることを特徴とする(60)に記載の生化学解析方法。

(62) 前記吸着性材料が、繊維材料よりなることを特徴とする(31)ないし(41)および(45)ないし(59)のいずれかに記載の生化学解析方法。

【0069】

本発明において、生化学解析用ユニットの基板または多孔板を形成するための材料としては、放射線および／または光を減衰させる性質を有するものであれば、特に限定されるものではなく、無機化合物材料、有機化合物材料のいずれをも使用することができるが、金属材料、セラミック材料またはプラスチック材料が、好ましく使用される。

【0070】

本発明において、生化学解析用ユニットの基板または多孔板を形成するために好ましく使用可能で、放射線を減衰させることのできる無機化合物材料としては、たとえば、金、銀、銅、亜鉛、アルミニウム、チタン、タンタル、クロム、鉄、ニッケル、コバルト、鉛、錫、セレンなどの金属；真鍮、ステンレス、青銅などの合金；シリコン、アモルファスシリコン、ガラス、石英、炭化ケイ素、窒化ケイ素などの珪素材料；酸化アルミニウム、酸化マグネシウム、酸化ジルコニウムなどの金属酸化物；タングステンカーバイド、炭酸カルシウム、硫酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、砒化ガリウムなどの無機塩を挙げることができる。これらは、単結晶、アモルファス、セラミックのような多結晶焼結体にいずれの構造を有していてもよい。

【0071】

本発明において、放射線を減衰させることのできる有機化合物材料としては、高分子化合物が好ましく用いられ、生化学解析用ユニットの基板または多孔板を

形成するために好ましく使用可能で、放射線を減衰させることのできる高分子化合物としては、たとえば、ポリエチレンやポリプロピレンなどのポリオレフィン；ポリメチルメタクリレート、ブチルアクリレート／メチルメタクリレート共重合体などのアクリル樹脂；ポリアクリロニトリル；ポリ塩化ビニル；ポリ塩化ビニリデン；ポリフッ化ビニリデン；ポリテトラフルオロエチレン；ポリクロロトリフルオロエチレン；ポリカーボネート；ポリエチレンナフタレートやポリエチレンテレフタレートなどのポリエステル；ナイロン6、ナイロン6, 6、ナイロン4, 10などのナイロン；ポリイミド；ポリスルホン；ポリフェニレンサルファイド；ポリジフェニルシロキサンなどのケイ素樹脂；ノボラックなどのフェノール樹脂；エポキシ樹脂；ポリウレタン；ポリスチレン；ブタジエーンスチレン共重合体；セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、でん粉、アルギン酸カルシウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの多糖類；キチン；キトサン；ウルシ；ゼラチン、コラーゲン、ケラチンなどのポリアミドおよびこれら高分子化合物の共重合体などを挙げることができる。これらは、複合材料でもよく、必要に応じて、金属酸化物粒子やガラス繊維などを充填することもでき、また、有機化合物材料をブレンドして、使用することもできる。

【0072】

一般に、比重が大きいほど、放射線の減衰能が高くなるので、本発明において、生化学解析用ユニットの基板または多孔板を、放射線を減衰させる性質を有する材料によって形成する場合は、比重 1.0 g/cm^3 以上の化合物材料または複合材料によって形成されることが好ましく、比重が 1.5 g/cm^3 以上、 2.3 g/cm^3 以下の化合物材料または複合材料によって形成されることが、とくに好ましい。

【0073】

本発明において、生化学解析用ユニットの基板または多孔板を形成するために好ましく使用可能な光を減衰させることのできる無機化合物材料としては、たとえば、金、銀、銅、亜鉛、アルミニウム、チタン、タンタル、クロム、鉄、ニッケル、コバルト、鉛、錫、セレンなどの金属；真鍮、ステンレス、青銅などの合金；シリコン、アモルファスシリコン、ガラス、石英、炭化ケイ素、窒化ケイ素

などの珪素材料；酸化アルミニウム、酸化マグネシウム、酸化ジルコニウムなどの金属酸化物；タングステンカーバイド、炭酸カルシウム、硫酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、砒化ガリウムなどの無機塩を挙げることができる。これらは、単結晶、アモルファス、セラミックのような多結晶焼結体にいずれの構造を有していてもよい。

【0074】

本発明において、光を減衰させることのできる有機化合物材料としては、高分子化合物が好ましく用いられ、生化学解析用ユニットの基板または多孔板を形成するために好ましく使用可能な光を減衰させることのできる高分子化合物としては、たとえば、ポリエチレンやポリプロピレンなどのポリオレフィン；ポリメチルメタクリレート、ブチルアクリレート／メチルメタクリレート共重合体などのアクリル樹脂；ポリアクリロニトリル；ポリ塩化ビニル；ポリ塩化ビニリデン；ポリフッ化ビニリデン；ポリテトラフルオロエチレン；ポリクロロトリフルオロエチレン；ポリカーボネート；ポリエチレンナフタレートやポリエチレンテレフタレートなどのポリエステル；ナイロン6、ナイロン6, 6、ナイロン4, 10などのナイロン；ポリイミド；ポリスルホン；ポリフェニレンサルファイド；ポリジフェニルシロキサンなどのケイ素樹脂；ノボラックなどのフェノール樹脂；エポキシ樹脂；ポリウレタン；ポリスチレン；ブタジエンスチレン共重合体；セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、でん粉、アルギン酸カルシウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの多糖類；キチン；キトサン；ウルシ；ゼラチン、コラーゲン、ケラチンなどのポリアミドおよびこれら高分子化合物の共重合体などを挙げることができる。これらは、複合材料でもよく、必要に応じて、金属酸化物粒子やガラス繊維などを充填することもでき、また、有機化合物材料をブレンドして、使用することもできる。

【0075】

一般に、光の散乱および／または吸収が大きいほど、光の減衰能が高くなるので、本発明において、生化学解析用ユニットの基板および多孔板を、光を減衰させる性質を有する材料によって形成する場合は、厚さ1 cmあたりの吸光度が0.3以上であることが好ましく、厚さ1 cmあたりの吸光度が1以上であれば、

さらに好ましい。ここに、吸光度は、厚さ T cm の板状体の直後に、積分球を置き、計測に利用するプローブ光またはエミッション光の波長における透過光量 A を分光光度計によって測定し、 A/T を算出することによって、求められる。

【0076】

本発明において、光減衰能を向上させるために、光散乱体や光吸収体を、生化学解析用ユニットの基板および多孔板に含有させることもできる。光散乱体としては、生化学解析用ユニットの基板および多孔板を形成している材料と異なる材料の微粒子が用いられ、光吸収体としては、顔料または染料が用いられる。

【0077】

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記基板が可撓性材料によって形成されている。

本発明の好ましい実施態様によれば、生化学解析用ユニットの基板が可撓性材料によって形成されているため、生化学解析用ユニットを湾曲させて、ハイブリダイゼーション溶液を接触させ、特異的結合物質に生体由来の物質をハイブリダイズさせることができ、したがって、少量のハイブリダイゼーション溶液を用いて、所望のように、特異的結合物質に生体由来の物質をハイブリダイズさせることが可能になる。

【0078】

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記基板に、前記孔が規則的に形成されているか、前記孔がそれぞれ略円形に形成されているか、あるいは前記孔がそれぞれ略矩形状に形成されている。

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記基板に、10以上、好ましくは50以上、さらに好ましくは100以上、さらに好ましくは1000以上、さらに好ましくは10000以上、さらに好ましくは100000以上の孔が形成されている。

【0079】

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記基板に形成された前記複数の孔が、それぞれ、5平方ミリメートル未満、さらに好ましくは1平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.5平方ミリメートル未満

、さらに好ましくは0.1平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.05平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.01平方ミリメートル未満のサイズを有している。

【0080】

本発明において、前記生化学解析用ユニットの前記基板に形成される孔の密度は、基板の材質、基板の厚みおよび放射性標識物質から放出される電子線の種類あるいは蛍光物質から放出される蛍光の波長などに応じて、決定される。

本発明の好ましい実施態様においては、前記複数の孔が、前記生化学解析用ユニットの前記基板に、10個/平方センチメートル以上、好ましくは50個/平方センチメートル以上、さらに好ましくは100個/平方センチメートル以上、さらに好ましくは500個/平方センチメートル以上、さらに好ましくは1000個/平方センチメートル以上、さらに好ましくは5000個/平方センチメートル以上、さらに好ましくは10000個/平方センチメートル以上の密度で、形成されている。

【0081】

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記多孔板に、貫通した孔が規則的に形成されているか、貫通した孔がそれぞれ略円形に形成されているか、あるいは、貫通した孔がそれぞれ略矩形状に形成されている。

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記多孔板に、10以上、好ましくは50以上、さらに好ましくは100以上、さらに好ましくは1000以上、さらに好ましくは10000以上、さらに好ましくは100000以上の貫通した孔が形成されている。

【0082】

本発明の好ましい実施態様においては、前記生化学解析用ユニットの前記多孔板に形成された前記複数の貫通した孔が、それぞれ5平方ミリメートル未満、好ましくは1平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.5平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.1平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.05平方ミリメートル未満、さらに好ましくは0.01平方ミリメートル未満のサイ

ズを有している。

【0083】

本発明において、前記生化学解析用ユニットの前記多孔板に形成される貫通した孔の密度は、多孔板の材質、基板の厚みおよび放射性標識物質から放出される電子線の種類あるいは蛍光物質から放出される蛍光の波長などに応じて、任意に決定することができる。

本発明の好ましい実施態様においては、前記複数の貫通した孔が、前記生化学解析用ユニットの前記多孔板に、10個／平方センチメートル以上、好ましくは50個／平方センチメートル以上、さらに好ましくは100個／平方センチメートル以上、さらに好ましくは500個／平方センチメートル以上、さらに好ましくは1000個／平方センチメートル以上、さらに好ましくは5000個／平方センチメートル以上、さらに好ましくは10000個／平方センチメートル以上の密度で、形成されている。

【0084】

本発明において、吸着性領域を形成する吸着性材料としては、多孔質材料あるいは繊維材料が好ましく使用される。多孔質材料と繊維材料を併用して、吸着性領域を形成することもできる。

本発明において、吸着性領域を形成するために使用される多孔質材料は、有機材料、無機材料のいずれでもよく、有機／無機複合体でもよい。

【0085】

本発明において、吸着性領域を形成するために使用される有機多孔質材料は、特に限定されるものではないが、活性炭などの炭素多孔質材料あるいはメンブレンフィルタを形成可能な多孔質材料が、好ましく用いられる。メンブレンフィルタを形成可能な多孔質材料としては、ナイロン6、ナイロン6, 6、ナイロン4, 10などのナイロン類；ニトロセルロース、酢酸セルロース、酪酸酢酸セルロースなどのセルロース誘導体；コラーゲン；アルギン酸、アルギン酸カルシウム、アルギン酸／ポリリシンポリイオンコンプレックスなどのアルギン酸類；ポリエチレン、ポリプロピレンなどのポリオレフィン類；ポリ塩化ビニル；ポリ塩化ビニリデン；ポリフッ化ビニリデン、ポリテトラフルオライドなどのポリフルオ

ライドや、これらの共重合体または複合体が挙げられる。

【0086】

本発明において、吸着性領域を形成するために使用される無機多孔質材料は、とくに限定されるものではないが、好ましくは、たとえば、白金、金、鉄、銀、ニッケル、アルミニウムなどの金属；アルミナ、シリカ、チタニア、ゼオライトなどの金属酸化物；ヒドロキシアパタイト、硫酸カルシウムなどの金属塩やこれらの複合体などが挙げられる。

【0087】

本発明において、吸着性領域を形成するために使用される繊維材料は、とくに限定されるものではないが、好ましくは、たとえば、ナイロン6、ナイロン6,6、ナイロン4,10などのナイロン類、ニトロセルロース、酢酸セルロース、酪酸酢酸セルロースなどのセルロース誘導体などが挙げられる。

本発明において、吸着性領域は、電解処理、プラズマ処理、アーク放電などの酸化処理；シランカップリング剤、チタンカップリング剤などを用いたプライマー処理；界面活性剤処理などの表面処理によって形成することもできる。

【0088】

本発明において、蓄積性蛍光体シートの支持体に、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域を形成する場合には、支持体の表面に、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域を形成しても、支持体に、複数の孔をドット状に形成し、ドット状に形成された複数の孔内に、輝尽性蛍光体層領域を形成するようにしてもよい。

本発明において、蓄積性蛍光体シートの支持体に、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域を形成する場合、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域は、生化学解析用ユニットに形成された吸着性領域と、同じパターンによって、形成される。

【0089】

本発明の好ましい実施態様においては、蓄積性蛍光体シートの支持体に、複数の貫通孔が、ドット状に形成され、輝尽性蛍光体層領域が、複数の貫通孔内に形成されている。

本発明のさらに好ましい実施態様においては、輝尽性蛍光体層領域が、複数の貫通孔内に、輝尽性蛍光体が充填されて、形成されている。

本発明の別の好ましい実施態様においては、蓄積性蛍光体シートの支持体に、複数の凹部が、ドット状に形成され、輝尽性蛍光体層領域が、複数の凹部内に形成されている。

本発明のさらに好ましい実施態様においては、輝尽性蛍光体層領域が、複数の凹部内に、輝尽性蛍光体が充填されて、形成されている。

本発明の好ましい実施態様においては、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域が、規則的なパターンで、蓄積性蛍光体シートに形成されている。

【0090】

本発明において、蓄積性蛍光体シートの支持体に、複数のドット状の輝尽性蛍光体層領域を形成する場合には、蓄積性蛍光体シートの支持体を形成するための材料としては、放射線を減衰させる性質を有するものが好ましく、放射線を減衰させる性質を有する材料は、とくに限定されるものではなく、無機化合物材料、有機化合物材料のいずれをも使用することができるが、金属材料、セラミック材料またはプラスチック材料が、とくに好ましい。

【0091】

本発明において、蓄積性蛍光体シートの支持体を形成するために好ましく使用可能で、放射線を減衰させることのできる無機化合物材料としては、たとえば、金、銀、銅、亜鉛、アルミニウム、チタン、タンタル、クロム、鉄、ニッケル、コバルト、鉛、錫、セレンなどの金属；真鍮、ステンレス、青銅などの合金；シリコン、アモルファスシリコン、ガラス、石英、炭化ケイ素、窒化ケイ素などの珪素材料；酸化アルミニウム、酸化マグネシウム、酸化ジルコニウムなどの金属酸化物；タングステンカーバイド、炭酸カルシウム、硫酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、砒化ガリウムなどの無機塩を挙げることができる。これらは、単結晶、アモルファス、セラミックのような多結晶焼結体にいずれの構造を有していてもよい。

【0092】

本発明において、蓄積性蛍光体シートの支持体を形成するために好ましく使用可能で、放射線を減衰させることのできる有機化合物材料としては、高分子化合物が好ましく用いられ、たとえば、ポリエチレンやポリプロピレンなどのポリオ

レフィン；ポリメチルメタクリレート、ブチルアクリレート／メチルメタクリレート共重合体などのアクリル樹脂；ポリアクリロニトリル；ポリ塩化ビニル；ポリ塩化ビニリデン；ポリフッ化ビニリデン；ポリテトラフルオロエチレン；ポリクロロトリフルオロエチレン；ポリカーボネート；ポリエチレンナフタレートやポリエチレンテレフタレートなどのポリエステル；ナイロン6、ナイロン6, 6、ナイロン4, 10などのナイロン；ポリイミド；ポリスルホン；ポリフェニレンサルファイド；ポリジフェニルシロキサンなどのケイ素樹脂；ノボラックなどのフェノール樹脂；エポキシ樹脂；ポリウレタン；ポリスチレン；ブタジエーンスチレン共重合体；セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、でん粉、アルギン酸カルシウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの多糖類；キチン；キトサン；ウルシ；ゼラチン、コラーゲン、ケラチンなどのポリアミドおよびこれら高分子化合物の共重合体などを挙げることができる。これらは、複合材料でもよく、必要に応じて、金属酸化物粒子やガラス繊維などを充填することもでき、また、有機化合物材料をブレンドして、使用することもできる。

【0093】

一般に、比重が大きいほど、放射線の減衰能が高くなるので、蓄積性蛍光体シートの支持体は、比重 1.0 g/cm^3 以上の化合物材料または複合材料によって形成されることが好ましく、比重が 1.5 g/cm^3 以上、 2.3 g/cm^3 以下の化合物材料または複合材料によって形成されることが、とくに好ましい。

【0094】

本発明の好ましい実施態様においては、蓄積性蛍光体シートの支持体が、隣り合うドット状の輝尽性蛍光体層領域の間の距離に等しい距離だけ、放射線が前記支持体中を透過したときに、放射線のエネルギーを $1/5$ 以下、好ましくは $1/10$ 以下、さらに好ましくは $1/50$ 以下、さらに好ましくは $1/100$ 以下、さらに好ましくは $1/500$ 以下、さらに好ましくは $1/1000$ 以下に減衰させる性質を有する材料によって形成されている。

【0095】

本発明において使用される輝尽性蛍光体としては、放射線のエネルギーを蓄積可能で、電磁波によって励起され、蓄積している放射線のエネルギーを光の形で

放出可能なものであればよく、とくに限定されるものではないが、可視光波長域の光により励起可能であるものが好ましい。具体的には、たとえば、米国特許第4,239,968号に開示されたアルカリ土類金属弗化ハロゲン化物系蛍光体 $(Ba_{1-x}M_{2+x})FX:yA$ （ここに、 M_{2+} はMg、Ca、Sr、ZnおよびCdからなる群より選ばれる少なくとも一種のアルカリ土類金属元素、XはCl、BrおよびIからなる群より選ばれる少なくとも一種のハロゲン、AはEu、Tb、Ce、Tm、Dy、Pr、Ho、Nd、YbおよびErからなる群より選ばれる少なくとも一種の三価金属元素、 x は $0 \leq x \leq 0.6$ 、 y は $0 \leq y \leq 0.2$ である。）、特開平2-276997号公報に開示されたアルカリ土類金属弗化ハロゲン化物系蛍光体 $SrFX:Z$ （ここに、XはCl、BrおよびIからなる群より選ばれる少なくとも一種のハロゲン、ZはEuまたはCeである。）、特開昭59-56479号公報に開示されたユーロピウム付活複合ハロゲン物系蛍光体 $BaFX \cdot xNaX':aEu^{2+}$ （ここに、XおよびX'はいずれも、Cl、BrおよびIからなる群より選ばれる少なくとも一種のハロゲンであり、 x は $0 < x \leq 2$ 、 a は $0 < a \leq 0.2$ である。）、特開昭58-69281号公報に開示されたセリウム付活三価金属オキシハロゲン物系蛍光体である $MOX:xCe$ （ここに、MはPr、Nd、Pm、Sm、Eu、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、YbおよびBiからなる群より選ばれる少なくとも一種の三価金属元素、XはBrおよびIのうちの一方あるいは双方、 x は、 $0 < x < 0.1$ である。）、米国特許第4,539,137号に開示されたセリウム付活希土類オキシハロゲン物系蛍光体である $LnOX:xCe$ （ここに、LnはY、La、GdおよびLuからなる群より選ばれる少なくとも一種の希土類元素、XはCl、BrおよびIからなる群より選ばれる少なくとも一種のハロゲン、 x は、 $0 < x \leq 0.1$ である。）および米国特許第4,962,047号に開示されたユーロピウム付活複合ハロゲン物系蛍光体 $MIIFX \cdot aMIX' \cdot bM'II X''^2 \cdot cMIIIX''^3 \cdot xA:yEu^{2+}$ （ここに、MIIはBa、SrおよびCaからなる群より選ばれる少なくとも一種のアルカリ土類金属元素、MIはLi、Na、K、RbおよびCsからなる群より選ばれる少なくとも一種のアルカリ金属元素、M'IIはBeおよびMgからなる群より選ばれる少なくとも一種の二価金属元

素、MIIIはA l、G a、I nおよびT lからなる群より選ばれる少なくとも一種の三価金属元素、Aは少なくとも一種の金属酸化物、XはC l、B rおよびIからなる群より選ばれる少なくとも一種のハロゲン、X'、X''およびX'''はF、C l、B rおよびIからなる群より選ばれる少なくとも一種のハロゲンであり、aは、 $0 \leq a \leq 2$ 、bは、 $0 \leq b \leq 10^{-2}$ 、cは、 $0 \leq c \leq 10^{-2}$ で、かつ、 $a + b + c \geq 10^{-2}$ であり、xは、 $0 < x \leq 0.5$ で、yは、 $0 < y \leq 0.2$ である。)が、好ましく使用し得る。

【0096】

本発明の好ましい実施態様においては、特異的結合物質は、スポッティング装置を用いて、生化学解析用ユニットの吸着性領域に滴下される。

本発明の好ましい実施態様においては、スポッティング装置は、特異的結合物質を滴下すべき担体が載置される基板と、特異的結合物質を滴下可能なスポッティングヘッドと、特異的結合物質を滴下すべき前記吸着性領域の基準位置を検出可能なセンサを備えている。

本発明の好ましい実施態様においては、スポッティング装置は、前記スポッティングヘッドと、前記基板とを、相対的に、少なくとも一次元方向に、間欠的に移動させる駆動機構を備えている。

【0097】

本発明の好ましい実施態様によれば、スポッティング装置が、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、少なくとも一次元方向に、間欠的に移動させる駆動機構を備えているから、センサによって、基板に載置され、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域を検出して、スポッティング装置のスポッティングヘッドと、生化学解析用ユニットが載置された基板との相対的位置関係を求めた後、駆動機構により、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、少なくとも一次元方向に、間欠的に移動させつつ、スポッティングヘッドから特異的結合物質を滴下することによって、少なくとも1次元方向において、生化学解析用ユニットに形成された吸着性領域に、確実に、特異的結合物質を滴下することが可能になる。

【0098】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記駆動機構が、前記スポッティングヘッドと、前記基板とを、相対的に、少なくとも一次元方向に、一定のピッチで移動させるように構成されている。

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、駆動機構が、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、少なくとも一次元方向に、一定のピッチで移動させるように構成されているから、センサによって、基板に載置され、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域を検出して、スポッティング装置のスポッティングヘッドと、生化学解析用ユニットが載置された基板との相対的位置関係を求めた後、駆動機構により、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、少なくとも一次元方向に、一定のピッチで間欠的に移動させつつ、スポッティングヘッドから特異的結合物質を滴下することによって、少なくとも一次元方向において、生化学解析用ユニットに形成された吸着性領域に、確実に、特異的結合物質を滴下することが可能になる。

【0099】

本発明の好ましい実施態様においては、前記駆動機構が、前記スポッティングヘッドと、前記基板とを、相対的に、二次元方向に、間欠的に移動させるように構成されている。

本発明の好ましい実施態様によれば、駆動機構が、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、二次元方向に、間欠的に移動させるように構成されているから、センサによって、基板に載置され、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域を検出して、スポッティング装置のスポッティングヘッドと、生化学解析用ユニットが載置された基板との相対的位置関係を求めた後、駆動機構により、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、二次元方向に、間欠的に移動させつつ、スポッティングヘッドから特異的結合物質を滴下することによって、生化学解析用ユニットに二次元的に形成された吸着性領域に、確実に、特異的結合物質を滴下することが可能になる。

【0100】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記駆動機構が、前記スポッティングヘッドと、前記基板とを、相対的に、二次元方向に、それぞれ、一定のピ

ッチで移動させるように構成されている。

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、駆動機構が、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、二次元方向に、それぞれ、一定のピッチで移動させるように構成されているから、センサによって、基板に載置され、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域を検出して、スポッティング装置のスポッティングヘッドと、生化学解析用ユニットが載置された基板との相対的位置関係を求めた後、駆動機構によって、スポッティングヘッドと、基板とを、相対的に、二次元方向に、一定のピッチで間欠的に移動させつつ、スポッティングヘッドから特異的結合物質を滴下することによって、生化学解析用ユニットに二次元的に形成された吸着性領域に、確実に、特異的結合物質を滴下することが可能になる。

【0101】

本発明の好ましい実施態様においては、前記基板に、前記生化学解析用ユニットを位置決めするための少なくとも2つの位置決め部材が形成されている。

本発明の好ましい実施態様によれば、基板に、生化学解析用ユニットを位置決めするための少なくとも2つの位置決め部材が形成されているから、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットを、基板の所定の位置に位置決めして、載置することが可能になる。

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記位置決め部材が、前記基板に立設されたピンによって構成されている。

【0102】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、位置決め部材が、前記基板に立設されたピンによって構成されているから、生化学解析用ユニットに対応する位置決め用の貫通孔を形成することによって、簡易に、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットを、基板の所定の位置に位置決めして、載置することが可能になる。

【0103】

本発明の好ましい実施態様においては、スポッティング装置は、前記センサによって検出された前記生化学解析用ユニットの少なくとも2つの基準位置に基づ

いて、特異的結合物質を滴下すべき前記生化学解析用ユニットの吸着性領域の位置データを算出する位置データ算出手段と、前記位置データ算出手段によって算出された特異的結合物質を滴下すべき前記生化学解析用ユニットの吸着性領域の位置データを記憶するメモリと、前記メモリに記憶された特異的結合物質を滴下すべき前記生化学解析用ユニットの吸着性領域の位置データにしたがって、前記駆動手段を制御する位置制御手段を備えている。

【0104】

本発明の好ましい実施態様によれば、スポッティング装置が、センサによって検出された生化学解析用ユニットの少なくとも2つの基準位置に基づいて、特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域の位置データを算出する位置データ算出手段と、位置データ算出手段によって算出された特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域の位置データを記憶するメモリと、メモリに記憶された特異的結合物質を滴下すべき生化学解析用ユニットの吸着性領域の位置データにしたがって、駆動手段を制御する位置制御手段を備えているから、自動的に、基板に、互いに離間して、ドット状に形成された複数の吸着性領域に、特異的結合物質を確実に滴下することが可能になる。

【0105】

また、特開2002-355036号公報の図1～図24には生化学解析用ユニットの具体例が記載されているが、吸着性領域又は吸着性材料に共有結合性官能基を有している点を除き、上記図1～図24に記載の生化学解析用ユニットと同様の生化学解析用ユニットを本発明において使用することができる。

以下の実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

【0106】

【実施例】

比較例1：ノンチャージナイロン6,6を用いた生化学解析用ユニット(A)製造法

(1) 大きさが80mmx80mm、厚み100 μ mのSUS304シートに、孔径0.2mmの開口部が円形の微細孔をエッチングによって孔ピッチ0.3mm、孔間隔0.1mmで10x10個を一単位として計6400個形成する。

(2) ノンチャージナイロンフィルター(ミリポア社製)と(1)で得た基板を重ねて、150℃に加熱したプレスロールとバックアップロールの間に送り込み、20kgf/cm²の圧力でプレスすることにより、基板の孔にナイロンフィルターを圧入して生化学解析用ユニット(A)を得る。

【0107】

比較例2：生化学解析用ユニット(A)へのオリゴ固定化方法

5'末端アミノ化オリゴ(GFP-70mer-NH₂, シグマジェノシス社製)をPBSにて50μMに希釈し、スポッターにて吸着性領域に点着し、80℃にて20分間ベーキング後、33mJ/cm²にてUV照射する。

【0108】

比較例3：ジゴキシゲニン標識GFPの調製、ハイブリダイゼーション及び検出方法

(1) 500ngのGFP-cRNA, 100μM ジゴキシゲニン-dUTP(アルカリ安定, ロシュ社製), 100μM dTTP, 500μM dATP・dGTP・dCTP, Oligo-dT 12-18プライマー(Invitrogen社製), RNaseOUT(Invitrogen社製)を混合し、20ulとする。そこにSuperScriptII逆転写酵素(Invitrogen社製)を1ul添加し、42℃にて50分間反応させる。70℃にて15分間処理することで反応停止後、RNaseH(Invitrogen社製)を1ul添加し37℃にて15分間RNAを分解させる。これをChromaSpin TE-30(Clontech社製)にて精製し、ジゴキシゲニン標識GFPを得る。

(2) 1, 10, 100pgのジゴキシゲニン標識GFPを熱変性後、4mlハイブリダイゼーションバッファーに添加する。あらかじめ60℃に保温したプレハイブリダイゼーションバッファー(4ml)を1時間、前記生化学解析用ユニット(A)の吸着性領域を横切る方法で循環させ(線速度0.2 cm/sec)、次に上記ハイブリダイゼーションバッファーを同様にして60℃にて、前記吸着性領域を横切る方法で18時間循環させる。次に洗浄バッファー1を5分間2回、洗浄バッファー2をさらに5分間2回循環し洗浄する(何れも60℃)。その後、ブロッキングバッファーをあらかじめ孔径0.22 μmのウルトラフリー(ミリポア社製)にて濾過し、10分間循環し、50分間循環停止する。以下すべて室温にて実施。アルカリフォスファターゼ標識抗ジゴキシゲニン抗体をあらかじめ孔径0.22 μmのウルトラフリー

(ミリポア社製)にて濾過し、あらかじめ孔径0.22 μ mのウルトラフリー (ミリポア社製)にて濾過したブロッキングバッファーに1/10000 volume添加、1分間循環し、60分停止する。次にケミルミ洗浄液を15分間循環させる。これを3回繰り返し、最後に化学発光基質であるCDP-star(ready-to-use, ロシユ社製)を1時間反応させ、LAS1000 (富士写真フイルム社製)にて発光量を検出する。

【0109】

実施例1: BiodyneC(COOH導入型ナイロン6,6メンブレン)を用いた生化学解析用ユニット(B)製造法

比較例1の製造方法において、ノンチャージナイロンフィルターの代わりにBiodyne C(COOH導入型ナイロン6,6メンブレン、ポール社製)を圧入することで共有結合型生化学解析用ユニット(B)を得る。

【0110】

実施例2: 実施例1で作製した(B)のCOOH活性化方法

実施例1で作製した生化学解析用ユニット(B)を1M 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide Hydrochloride(略称: EDC、WAKOカタログより)(水溶性カルボジイミド)/1M NHS(N-ヒドロキシコハク酸イミド)水溶液を入れたバットに入れ、室温にて1時間振とうする。その後エタノールでリンスし、室温にて乾燥させ、生化学解析用ユニット(C)を得る。

【0111】

実施例3: オリゴヌクレオチドを固定化した生化学解析用ユニット(D)の作製方法

5'末端アミノ化オリゴ(NH₂-GFP<70mer>, シグマジェノシス社製)をPBSにて50uMに希釈し、これをスポッターにて(C)の吸着性領域に点着する。飽和食塩水蒸気下において1時間、室温にて反応させる。0.1% Tween20/TBSにてリンス後、0.1N NaOH入りバットへ移し、室温にて10分間振とうさせる。Milli-Q水中で5分間洗浄を3回繰り返し、生化学解析用ユニット(D)を得る。

【0112】

実施例4: 生化学解析用ユニット(D)を用いたジゴキシゲニン標識GFPの検出

実施例 3 で作製した生化学解析用ユニット(D)を用い、比較例 3 の方法と同様にジゴキシゲニン標識GFPのハイブリダイゼーション及び検出を行う。

【0113】

実施例 5 : 二官能性スパーサーを固定化した生化学解析用ユニット(E)の作製方法

実施例 2 で作製した生化学解析用ユニット(C)を10mM Sulfo-KMUS (N-[κ -Maleimidoundecanolyloxy]-dulgosccinimide ester, PIERCE社製) のPBS溶液中に浸漬させ、室温にて1時間振とうさせる。その後エタノールでリンスし、室温にて乾燥させ、(CH₂)₁₀のスパーサーを介してマレイミド基を表面に持つ生化学解析用ユニット(E)を得る。

【0114】

実施例 6 : スパーサーを介してオリゴヌクレオチドを固定化した生化学解析用ユニット(F)の作製方法

5'末端チオール化オリゴ(SH-GFP<70mer>, シグマジェノシス社製)をPBSにて50 μ Mに希釈する。これをスポッターにて(E)の吸着性領域に点着する。飽和食塩水蒸気下において1時間、室温にて反応させる。2%メルカプトエタノールのPBS緩衝液溶液に浸漬し、30分振とう後、0.1N NaOH入りバットへ移し、室温にて10分間振とうさせる。Milli-Q水中で5分間洗浄を3回繰り返し、生化学解析用ユニット(F)を得る。

【0115】

実施例 7 : 生化学解析用ユニット(F)を用いたジゴキシゲニン標識GFPの検出

実施例 6 で作製した生化学解析用ユニット(F)を用い、比較例 3 の方法と同様にジゴキシゲニン標識GFPのハイブリダイゼーション及び検出を行う。

【0116】

上記の比較例 3、実施例 4 および実施例 7 で行った検出の結果を以下の表 1 に示す。表 1 の結果に示されるように、オリゴヌクレオチド末端と吸着性領域が共有結合固定することにより(実施例 4 および実施例 7)、UV照射による固定化(比較例 3)と比べて格段にシグナル相対強度が向上している。これは共有結合固定によってオリゴヌクレオチドの末端のみが固定化されているため、ハイブリダ

イゼーション効率がUV照射固定の場合と比べて大きく向上したと思われる。
C10アルキルのスペーサーを介してオリゴヌクレオチドを固定化した生化学解析
ユニット(F)を用いた実施例7のシグナル相対強度が、実施例4の結果と比べて
上がっており、スペーサーの効果も大きいことがわかる。

【0117】

【表1】

表1：比較例との比較データ（シグナル相対強度）

	GFP-1pg	GFP-10pg	GFP-100p g
実施例4(共有結合固定)	200	500	2000
実施例7(スペーサーを介した共有結合固定)	300	1000	5000
比較例3(UV照射)	100	100	100

【0118】

実施例8：ナイロンへのビニルスルホニル基の導入

ノンチャージナイロンフィルター(ミリポア社製)を3重量% 1, 2-ビス(ビ
ニルスルホニルアセトアミド)エタンのホウ酸緩衝液(pH8)溶液に浸漬し、2
5℃にて120分振とう後、滅菌済み蒸留水にて洗浄する。40℃にて30分乾燥させ、
ビニルスルホニル化ナイロン(G)を得る。

【0119】

実施例9：共有結合型生化学解析用ユニット(H)製造法

比較例1の製造方法において、ノンチャージナイロンフィルターの代わりにビ
ニルスルホニル化ナイロン(G)を圧入することで共有結合型生化学解析用ユニッ
ト(H)を得る。

【0120】

実施例 10：オリゴを固定化した生化学解析用ユニット(I)の作製方法

5'末端アミノ化オリゴ(NH₂-GFP<70mer>, シグマジェノシス社製)をPBSにて50uMに希釈する。これをスポッターにて(F)の吸着性領域に点着する。飽和食塩水蒸気下において1時間、室温にて反応させる。0.5Mグリシン-ホウ酸緩衝液中にて30分振とうさせ、オリゴを固定化した生化学解析用ユニット(G)を得る。

【0121】

実施例 11：ジゴキシゲニン標識GFPの調製及び検出方法

比較例3の方法と同様にジゴキシゲニン標識GFPのハイブリダイゼーション及び検出を行う。結果を以下の表2に示す。表2の結果に示されるように、UV照射による固定化と比べて格段にシグナル強度が向上している。低分子化合物である1, 2-ビス(ビニルスルホニルアセトアミド)エタン処理によって共有結合性官能基を導入し、オリゴヌクレオチド末端にて固定化した効果である。

【0122】

【表2】

表2：比較例との比較データ(シグナル相対強度)

	GFP-1pg	GFP-10pg	GFP-100pg
実施例 11	200	400	1000
比較例 3	100	100	100

【0123】

本実施例で用いた試薬は以下の通りである。

プレハイブリダイゼーション及びハイブリダイゼーションバッファー：

0.5M チャーチリン酸バッファー、1mM EDTA, 7% SDS

洗浄バッファー 1:40mMチャーチリン酸バッファー, 1% SDS

洗浄バッファー 2:0.1xSSC, 0.1%SDS

ケミルミ洗浄バッファー (ロッシュ社製DIG Wash and Block buffer Setに記載のもの)

ブロッキングバッファー (ロッシュ社製DIG Wash and Block buffer Setに記載のもの)

ディテクションバッファー (ロッシュ社製DIG Wash and Block buffer Setに記載のもの)

5'末端アミノ化オリゴ(GFP-70mer, シグマジェノシス社製)配列: 5'- CAACAAAAT ACTCCAATTGGCGATGGCCCTGTCCTTTTACCAGACAACCATTACCTGTCCACACAATCTG-3' (配列番号1)

【0124】

【発明の効果】

本発明により、特異的結合物質を強固かつ高効率な固定化をすることが可能であり、固定化する特異的結合物質の方向のコントロールすることにより特異的かつ高いシグナルを得ることができる生化学解析用ユニットを提供することが可能になった。

【0125】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Fuji Photo Film Co.Ltd.,

<120> Unit for biochemical analysis

<130> A31183A

<160> 1

【0126】

<210> 1

<211> 70

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 1

caacaaaata ctccaattgg cgatggccct gtccttttac cagacaacca ttacctgtcc 60

acacaatctg

70

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 特異的結合物質を強固かつ高効率な固定化をすることが可能であり、固定化する特異的結合物質の方向のコントロールすることにより特異的かつ高いシグナルを得ることができる生化学解析用ユニットを提供すること。

【解決手段】 放射線および／または光を減衰させる性質を有する材料によって形成され、複数の孔が形成された基板を備え、前記複数の孔内に、それぞれ、吸着性領域が形成され、それによって、複数の吸着性領域が形成されたことを特徴とする生化学解析用ユニットにおいて、吸着性領域に共有結合性官能基を有する生化学解析用ユニット。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 3 - 0 9 0 3 6 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 5 2 0 1]

1. 変更年月日	1 9 9 0 年 8 月 1 4 日
[変更理由]	新規登録
住 所	神奈川県南足柄市中沼 2 1 0 番地
氏 名	富士写真フイルム株式会社